KARYOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN AN PAPILLÄREN OVARIALKYSTOMEN UND KYSTADENOKARZINOMEN

Klaus-Dieter Erwes

1968

AUS DER I. FRAUENKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Bickenbach

KARYOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN AN PAPILLÄREN OVARIALKYSTOMEN UND KYSTADENOKARZINOMEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Klaus-Dieter Erwes

aus Wuppertal-Barmen

München 1968

A. Schubert · München 5 · Corneliusstr. 21 · Telefon 22 17 77

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. W. BICKENBACH
Dekan: Prof. Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 12.3.1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I.	EINLEITUNG	5
II.	MATERIAL UND METHODE	7
	a. Material	7
	b. mikroskopische Technik	7
	c. fotografische Technik	9
	d. Methode	10
III.	ERGEBNISSE	11
	a. Kernverteilungskurven	12
	b. Summenkurven	16
	c. Kennzahlen der Verteilungen	20
	d. Signifikanzberechnungen	21
IV.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	22
V.	DISKUSSION	28
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	31
	LITERATURVERZEICHNIS	33
	LEBENSLAUF	41

I. EINLEITUNG

Ein interessantes Arbeitsgebiet in der Zell- und Krebsforschung hat die Größe von Zellkernen zum Gegenstand. Die ersten bedeutenden Ergebnisse quantitativ-zytologischer Untersuchungen sind seit Anfang des Jahrhunderts bekannt.

R. HERTWIG fand 1903 die Kern-Plasma-Relation, 1905 entdeckte dann BOVERI eine arithmetische Beziehung zwischen Kerngröße und Chromosomenzahl und JACOBI stellte 1925 das Gesetz vom rhythmischen Verdoppelungswachstum der Zellkerne auf. Formen und Vorgänge des Zellwachstums konnten also durch Maß und Zahl genauer definiert werden (32, 40, 42, 53, 59). Das Kernvolumen ist aber nicht nur vom Wachstumsmodus der Zelle abhängig, sondern es wird auch von der Zellaktivität beeinflußt (43, 44, 50). Ohne die langwierige Entwicklung einer Mitose durchzumachen, reagieren nämlich differenzierte Zellen, die unter Umwelteinflüssen, unter physiologischen oder metabolischen Bedingungen in einen Arbeitsprozeß eingeordnet sind, mit einer echten Zunahme ihrer Masse (5, 9, 22, 49, 62). Über Volumenschwankungen der Zellkerne ließ sich daher die Funktion einzelner Organe kontrollieren und selbst biologisch so komplexe Vorgänge wie die periodischen Veränderungen am weiblichen Genitale konnten quantitativ erfaßt und gesichert werden (3, 24, 30, 39, 46, 51, 56, 61, 66, 75-79).

In gleicher Weise hat man mit Zellkernmessungen auch die durch endogene oder exogene Noxen verursachte Schädigung der Zelle nachweisen können (4, 55, 65, 70); denn die kompensatorische Stoffwechselleistung der geschädigten Zelle, die mit einer Vermehrung von Eiweißsubstanzen einhergeht, hat eine Zunahme des Kernvolumens zur Folge. Diesen Kernzustand bezeichnet GRUNDMANN (23) als ein "pathologisches Kernödem". Schon BENNINGHOFF (3) hatte die physiologische Volumenzunahme als ein "funktionelles Kernödem" gedeutet.

Als ein brauchbares Hilfsmittel fand die Karyometrie auch in der Krebsforschung vielseitige Anwendung (2, 6, 11, 14, 26, 27, 29, 71-73). Es gibt zwar hinsichtlich der Zellkerngröße kein diagnostisches Merkmal, das für alle Tumoren gilt; doch konnten durch exakt erfaßte Kernveränderungen einzelne Blastome mor-

phologisch besser typisiert (29, 48), die Entwicklung experimentell erzeugter Geschwülste anschaulicher dargestellt (13, 52, 54, 64) und die Histogenese des Krebses weiter erforscht werden (2, 14, 41, 47, 63). Besonders jene Untersuchungen, die gut- und bösartige Neubildungen eines bestimmten Organs einer genauen Kerngrößenanalyse unterzogen, lieferten aufschlußreiche Ergebnisse (7, 8, 10, 12, 21, 45). Da sich im Verlauf der Krebsentstehung die Struktur des Zellkerns grundlegend ändert, konnte mit Hilfe quantitativer Untersuchungsmethoden sogar die Umwandlung einer normalen Epithelzelle in eine Krebszelle nachgewiesen werden (33).

In der vorliegenden Arbeit wurden papilläre Kystome und Kystadenokarzinome des Ovars karyometrisch untersucht, um festzustellen, inwieweit mit dieser Methode eine Differenzierung zwischen gut- und bösartigen epithelialen Eierstockstumoren möglich ist.

II. MATERIAL UND METHODE

a. Material

Nach der vom cancer comitee of the international federation of gynecology and obstetrics vorgeschlagenen und an der I. Frauenklinik der Universität München modifizierten Einteilung der epithelialen Eierstockstumoren haben wir karyometrische Untersuchungen an je vier nach eindeutigen histo-pathologischen Kriterien als gutartig bezeichneten papillären Kystomen, Gruppe Ia, und als bösartig klassifizierten Kystadenokarzinomen, Gruppe Ic, vorgenommen.

In Anlehnung an diese Einteilung wurden zur besseren Übersicht die Kystome mit A und die Kystadenokarzinome mit C bezeichnet. Da je vier Fälle beider Kategorien ausgewertet wurden, sind die Buchstaben A und C mit dem Index 1 bis 4 nach den fortlaufenden chronologisch aufgeführten Präparatnummern versehen worden.

Im Rahmen dieser Untersuchung lieferte die Auswertung von je vier Fällen der beiden Gruppen brauchbare Ergebnisse.

b. mikroskopische Technik

Um tatsächlich bestehende Unterschiede in den Kerngrößen nicht zu verwischen und nicht-existierende Differenzen vorzutäuschen, ist das Untersuchungsmaterial einheitlich operationsfrisch in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet worden (15, 31, 80). Die Schnitte wurden in einer für karyometrische Untersuchungen günstigen Dicke von 5 µ hergestellt (16). Zum Färben bevorzugten wir nach einigen Vorversuchen das Hämalaun, welches uns den besten Kontrast zwischen Zellkern und Zellplasma lieferte. Auf Grund der Färbung mit Hämalaun zeigen die Kerne auch eine scharfe, klare Konturierung.

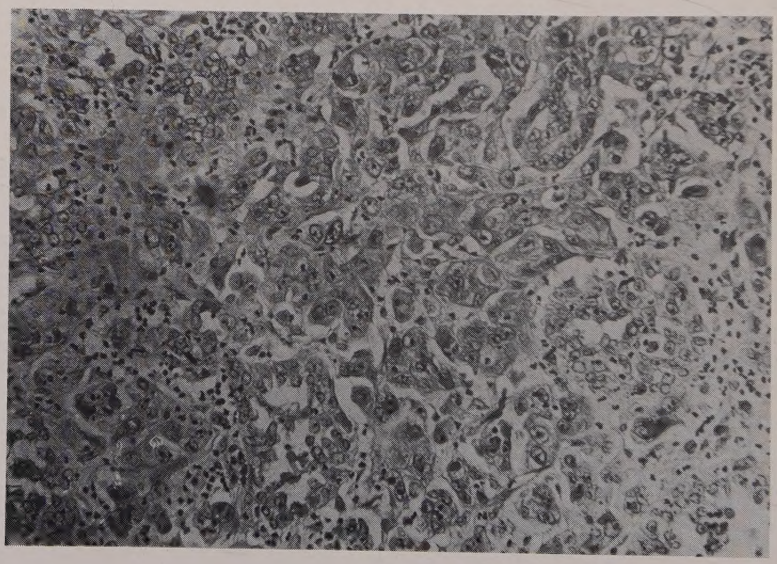

ABBILDUNG 1 und 2

Mit Hämalaun dargestellte Zellkerne eines papillären Ovarialkystoms und ein Kystadenokarzinoms. (Vergr. 1:200; oben: Kystom-Präp. A_1, Aufn. 71; unten: Karzinom-Präp. C_2, Aufn. 37.)

c. fotografische Technik

Von den erstellten histologischen Schnittpräparaten haben wir im Mikroskop (Objektiv 16 x 8) unter Vorsatz eines Grünfilters in der Regel 4 Gesichtsfelder fotografiert (1, 16). Weil zu Beginn einer jeden Aufnahmeserie ein Mikrometermaßstab mitfotografiert wurde, konnten die Positive in der gewünschten Vergrößerung von 1:500 außerordentlich exakt hergestellt und auf transparentem AGFA-AGEPE-Papier entwickelt werden.

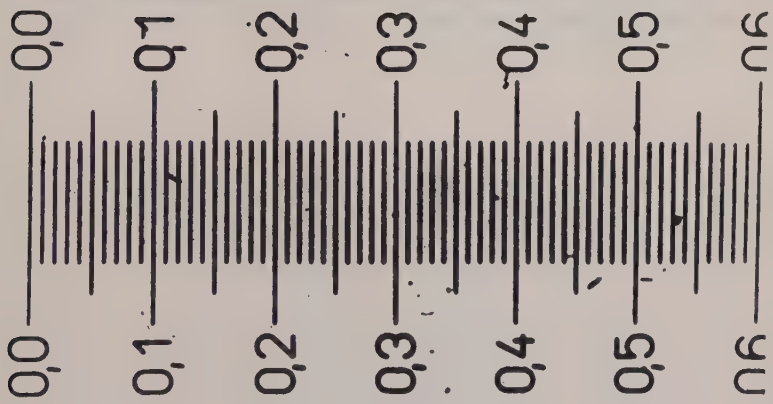

ABBILDUNG 3

Fotografierter Mikrometermaßstab in einer Vergrößerung von 1:200.

d. Methode

Die Kernmessungen wurden mit dem vor wenigen Jahren erstmals zur Korngrößenanalyse eingeführten Teilchengrößenzählgerät TGZ-3 der Firma ZEISS vorgenommen. Gegenüber anderen Meßverfahren (1, 58, 60) hat sich dieses Zählgerät der Firma ZEISS wegen seiner Zeitersparnis und Genauigkeit auch zur Messung von biologischen Partikeln als vorzüglich geeignet erwiesen (16, 69).
Die Darstellung der Korngrößenverhältnisse erfolgte in Verteilungsdiagrammen und Summenkurven. Pro Präparat wurden für die Verteilungskurven durchschnittlich 700 Kerne, für die Summenkurven 500 Kerne ausgewertet. Insgesamt wurden rund 10 000 Kerne gemessen.

Über technische Details sowie über die Vor- und Nachteile der benutzten Auswertungsverfahren sei an dieser Stelle auf die einschlägigen Schriften der Firma ZEISS+) und auf die mathematisch-statistischen Darlegungen von STÖBER, WITT und ARNOLD (69) hingewiesen.

+)
Gebrauchsanweisung zum TGZ-3; Druckschrift: Teilchengrößenanalysator nach ENDTER; ZEISS-Werkzeitschrift 44, 1962, S. 57

III. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse gliedern sich in drei Abschnitte. Zunächst vermitteln die in Form von Treppenpolygonen dargestellten Abbildungen 4-11 eine Übersicht über die Kerngrößenverteilungen bei papillären Ovarialkystomen und Kystadenokarzinomen. Über die mathematische Verteilungsfunktion der empirisch gefundenen Kernverteilungen geben die Summenkurven im zweiten Teil Aufschluß (Abbildung 12-19).

Schließlich sind in je einer Tabelle auch noch die charakteristischen Kennzahlen der Kerndurchmesserverteilungen sowie die zur Prüfung der Ergebnisse benötigten F- und t-Werte der einzelnen Kernkollektive in ihren gleichwertigen oder signifikanten Verhältnissen zusammengefaßt worden.

a. Kernverteilungskurven papillärer Ovarialkystome

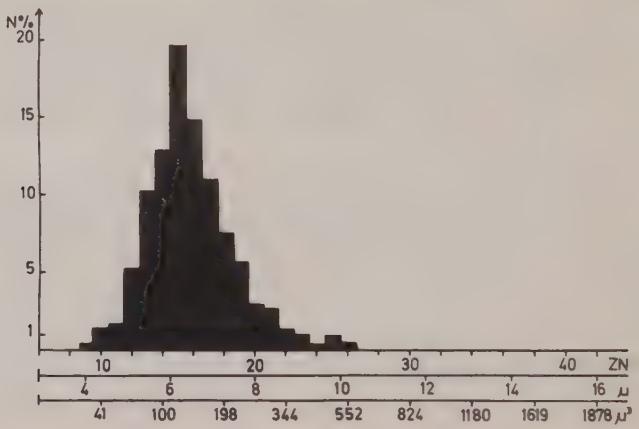

ABBILDUNG 4

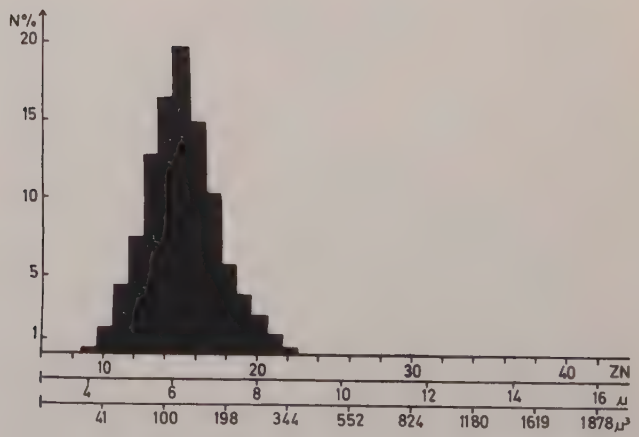

ABBILDUNG 5

ABBILDUNG 4-7

Verteilungskurven von je 700 Zellkernen papillärer Ovarialkystome. ABSZISSE: Zählwerknummern (ZN) und ihnen zugeordnete reale Kerndurchmesser in µ, sowie die entsprechenden Kernvolumina in μ^3. ORDINATE: Häufigkeitsprozente (N) pro 0,36 µ Durchmesserintervall. (Die Reihenfolge der Abbildungen entspricht den Präparatsbezeichnungen in der Folge A_1, A_2 usw.)

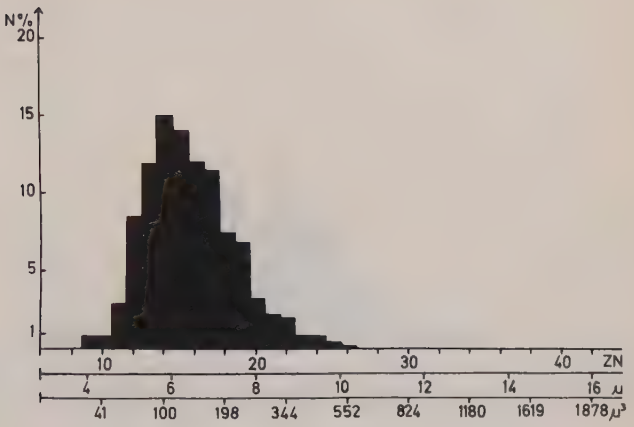

ABBILDUNG 6

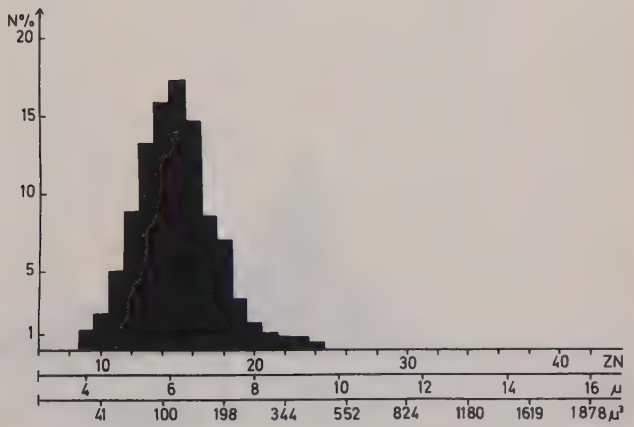

ABBILDUNG 7

a. Kernverteilungskurven von Kystadenokarzinomen

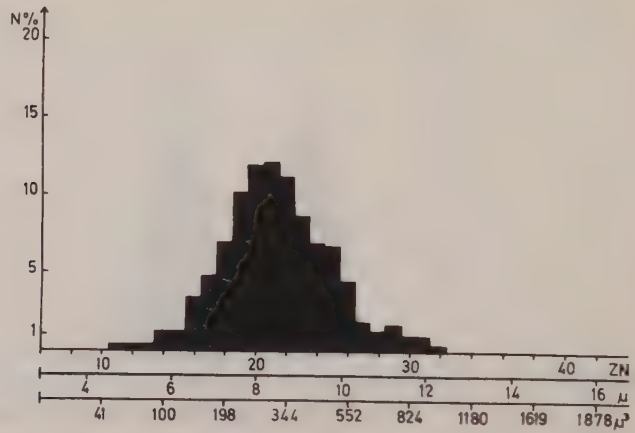

ABBILDUNG 8

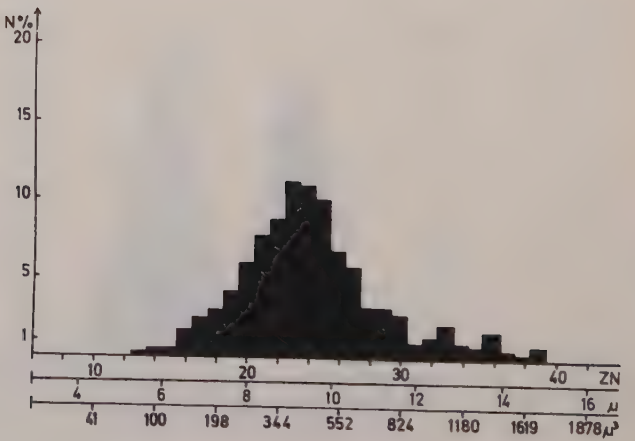

ABBILDUNG 9

ABBILDUNG 8-11

Verteilungskurven von je 700 Zellkernen der Kystadenokarzinome. ABSZISSE: Zählwerknummern (ZN) und ihnen zugeordnete reale Kerndurchmesser in μ, sowie die entsprechenden Kernvolumina in μ^3. ORDINATE: Häufigkeitsprozente (N) pro 0,36 μ Durchmesserintervall. (Die Reihenfolge der Abbildungen entspricht den Präparatsbezeichnungen in der Folge C_1, C_2 usw.)

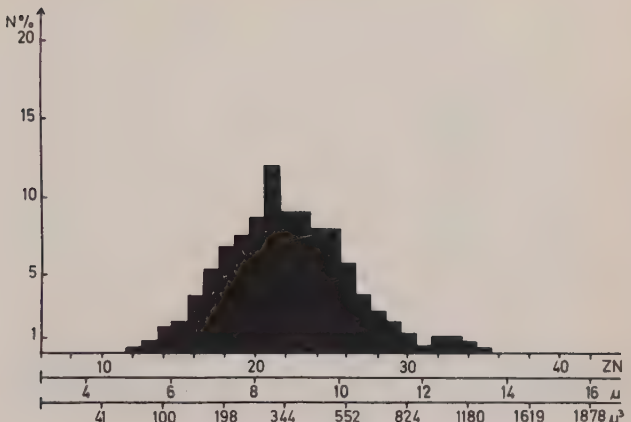

ABBILDUNG 10

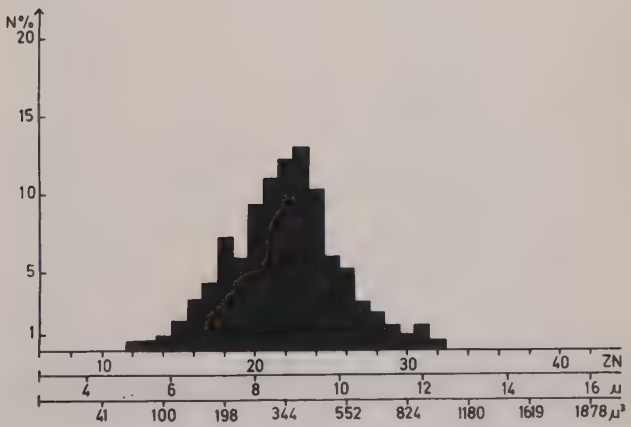

ABBILDUNG 11

b. Summenkurven papillärer Ovarialkystome

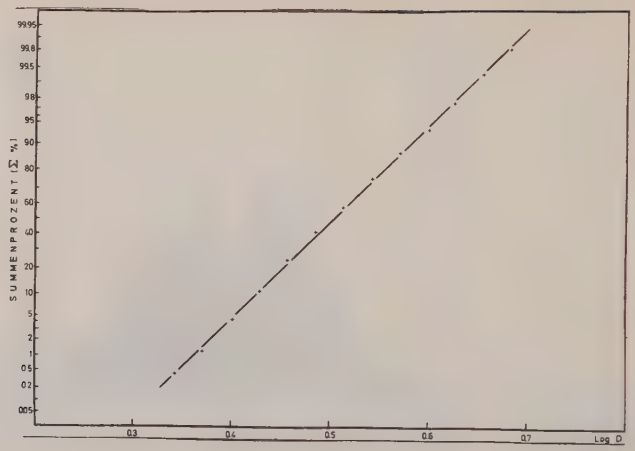

ABBILDUNG 12

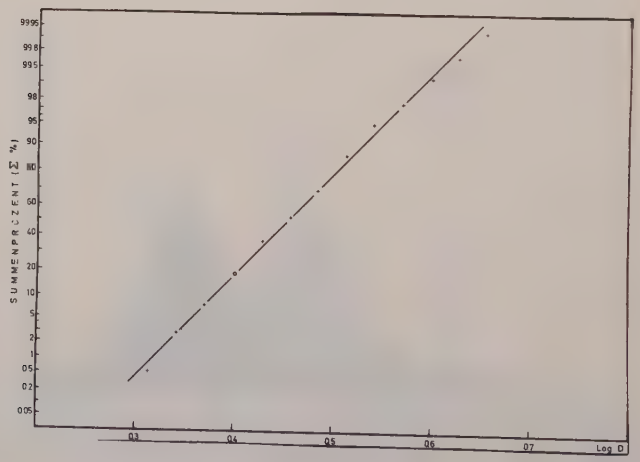

ABBILDUNG 13

ABBILDUNG 12-15

Relative Summenkurven von Zellkernen papillärer Ovarialkystome im Wahrscheinlichkeitsnetz mit logarithmischer Durchmesserabszisse. (Die Reihenfolge der Abbildungen entspricht der Präparatsbezeichnung in der Folge A_1, A_2 usw.)

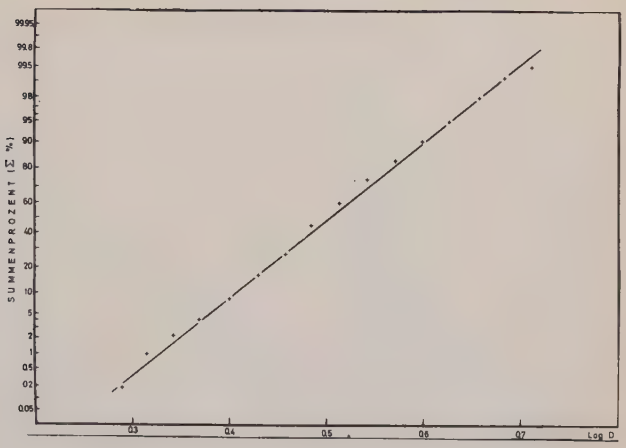

ABBILDUNG 14

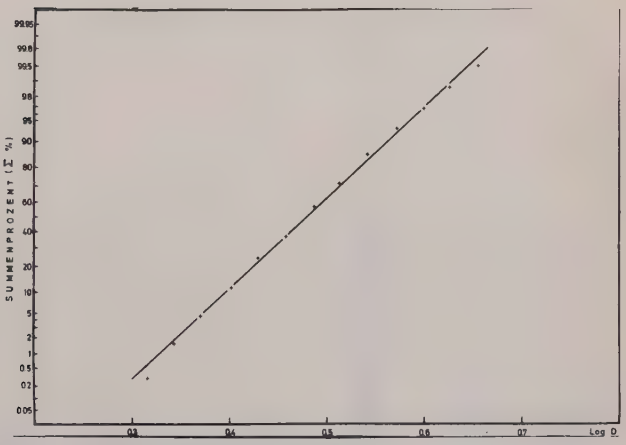

ABBILDUNG 15

b. Summenkurven von Kystadenokarzinomen

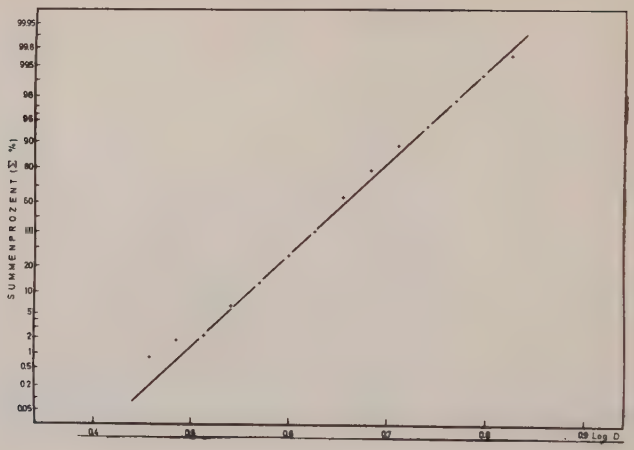

ABBILDUNG 16

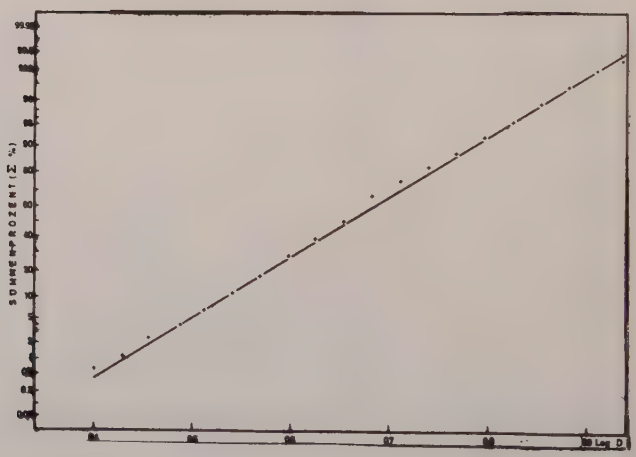

ABBILDUNG 17

ABBILDUNG 16-19

Relative Summenkurven von Zellkernen der Kystadenokarzinome im Wahrscheinlichkeitsnetz mit logarithmischer Durchmesserabszisse. (Die Reihenfolge der Abbildungen entspricht der Präparatsbezeichnung in der Folge C_1, C_2 usw.)

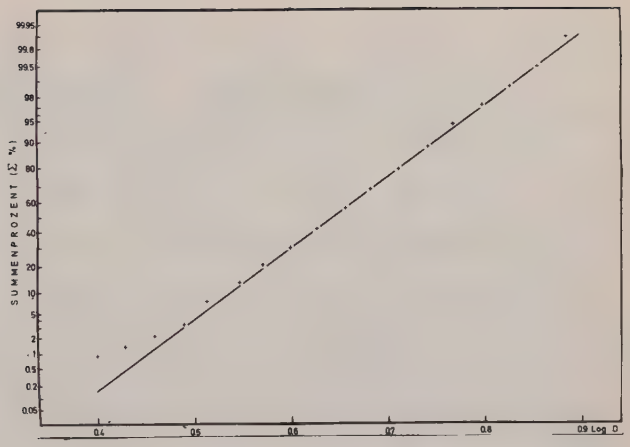

ABBILDUNG 18

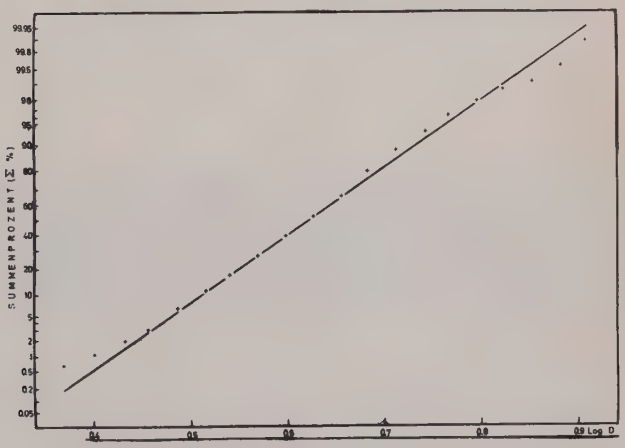

ABBILDUNG 19

c. Kennzahlen der Verteilungen

	Bez.	Präp.-Nr.	$\overline{D}_{graph.}$	$\overline{D}_{rechn.}$	$\overline{V}$	$\sigma_{graph.}$	$\sigma_{rechn.}$	$V_{koeff.}$	m
KYSTOME	A_1	545/60	6.34	6.43	139	1.02	1.03	16.02	13
	A_2	1111/60	6.00	6.14	121	0.82	0.85	13.84	13
	A_3	1879/63	6.42	6.39	136	1.08	1.06	16.59	16
	A_4	1481/64	6.06	6.09	118	0.94	0.96	15.76	13
KARZINOME	C_1	1634/63	8.82	8.89	367	1.38	1.36	15.36	14
	C_2	31/64	9.52	9.63	468	1.84	1.82	18.90	20
	C_3	66/64	8.76	8.77	353	1.56	1.54	17.56	18
	C_4	399/64	8.66	8.74	349	1.46	1.41	16.13	20

TABELLE 1

Die graphisch erhaltenen und rechnerisch ermittelten Werte für den mittleren Kerndurchmesser $\overline{D}$ und für die mittlere quadratische Abweichung σ der einzelnen Kernkollektive. Zusätzlich ist der mittlere Volumenwert $\overline{V}$ und unter V_{koeff} der Variabilitätskoeffizient als ein Vergleichsmaß aufgeführt. Unter m sind die besetzten Intervalle der Kernkollektive angegeben.

d. Signifikanzberechnungen

	Bez.	C_1	C_2	C_3	C_4	sehr signifikant ++; signifikant +; gleichwertig -;	Ergebnisse			
F-Werte	A_1	1.75	3.12	2.24	1.88		-	+	-	-
	A_2	2.57	4.60	3.30	2.76		-	++	+	+
	A_3	1.65	2.96	2.12	1.78		-	+	-	-
	A_4	2.01	3.60	2.61	2.16		-	+	-	-
t-Werte	A_1	5.02	6.27	4.48	4.91		++	++	++	++
	A_2	5.98	7.27	5.84	6.34		++	++	++	++
	A_3	5.43	6.48	4.49	5.35		++	++	++	++
	A_4	5.18	7.08	5.07	5.31		++	++	++	++

TABELLE 2

F-Werte, die gleichwertige oder signifikante Verhältnisse zwischen den einzelnen Streuungsmaßen demonstrieren. t-Werte, die in allen Fällen ($t > p=1\%$) einen sehr signifikanten Unterschied zwischen den mittleren Kerndurchmesserwerten von papillären Ovarialkystomen und Kystadenokarzinomen anzeigen.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In dem Bemühen, möglichst genaue Ergebnisse zu erzielen, sind die zu vergleichenden Objekte nach einheitlichen Gesichtspunkten einer Vorbehandlung und Aufarbeitung unterzogen und zur Zellkernmessung das derzeit modernste Verfahren angewandt worden. Im Interesse eindeutiger Meßwerte haben wir weiterhin beachtet, daß die gemessenen Kerne einer Stichprobenwahl entsprechen. Von jedem histologischen Schnittpräparat wurden daher vier verschiedene Mikroaufnahmen angefertigt und zur Auswertung herangezogen.

Die Darstellung und Analyse der einzelnen Kernkollektive ist unter verschiedenen Aspekten durchgeführt worden. Um über ein gemeinsames Koordinatensystem ein Bild von den Kerngrößenverhältnissen papillärer Kystome und Kystadenokarzinome zu erhalten, wurden mit dem Teilchengrößenzählgerät zunächst die Verteilungskurven aufgenommen. Dazu wählten wir das Zählverfahren mit konstanter Schrittbreite, das sich wegen einer wesentlich besseren Wiedergabe der Verteilungskurven dort als vorteilhaft erwiesen hat, wo -wie aus unseren Mikroaufnahmen durchaus ersichtlich- ein kleines Spektrum der Kerndurchmesser vorliegt.

Die Meßwerte der Zählwerke liefern unmittelbar bei Auftragung über der jeweiligen Intervallmitte die Kerndurchmesserverteilungskurve. Um die absoluten Durchmesserwerte der Kerne zu erhalten, ist es allerdings notwendig, die der benutzten Zählart und Darstellungsweise zugeordneten Intervalldaten durch die Gesamtvergrößerung der Positive zu dividieren. Da der verkleinerte Meßbereich des TGZ-3 eingestellt war, der bei einer Vergrößerung von 1:500 genaue Messungen auch in kleineren Durchmesserbereichen ermöglichte, müssen die erhaltenen Werte zusätzlich durch 3 geteilt werden.

Für die graphische Darstellung haben wir als Abszissen die Zählwerknummern und nachträglich die dazugehörigen realen Kerndurchmesser in μ, sowie die nach den bekannten Beziehungen für kugelige Körper errechneten Volumenwerte in μ^3 aufgetragen. Als Ordinaten wurden die in einem Durchmesserintervall von 0,36 μ gezählten Kerne in Prozent angegeben. Die Gesamtzahl der pro Präparat gemessenen Partikel betrug stets 100 %. Daß die ermittelten Durchmesserverteilungen reell sind, beweisen die aus einer Zwischenablesung bei 500 Kernen erhaltenen Werte, die bis auf geringfügige Abweichungen schon dem Verteilungsmuster der vorliegenden Kurven entsprechen.

Die Verteilungsdiagramme zeigen beachtliche Unterschiede zwischen gut- und bösartigen Eierstockstumoren. Die Kerngrößenvariationen papillärer Ovarialkystome (Abbildung 4-7) sind in bezug auf ein gemeinsames Koordinatensy-

stem von einem einheitlichen Bild geprägt, wenn man von kleinen Unregelmäßigkeiten absieht, die durch individuelle Unterschiede bedingt sein können. Die Verteilungskurven verlaufen steilgipflig und zeigen nur rechts, im Bereich kleinerer Ordinatenwerte Verzögerungen. Sie umfassen dabei Durchmessergrößen von durchschnittlich 4 bis 10,5 μ und Volumenwerte von rund 30 bis 600 μ^3. Die Gipfelhöhe schwankt zwischen 15 und 20 % der jeweils ausgezählten Kerne und liegt bis auf eine Ausnahme (A_3 = 6,78 μ) einheitlich bei 6,14 μ Kerndurchmesser bzw. 100 bis 120 μ^3 Kernvolumen.

Bei den Kernverteilungen der Kystadenokarzinome (Abbildungen 8-11) fallen uns gravierendere Unregelmäßigkeiten ins Auge. Ihre Verteilungskurven sind weiter nach rechts in den Bereich der großen Durchmesserwerte verschoben. Das Kerngrößenspektrum ist von 5 bis auf 15,5 μ angewachsen und umfaßt Volumenwerte von 70 bis 1900 μ^3. Der Verlauf der Kurven ist flach und nach mäßigem Anstieg zum Gipfel über vermehrte Plateaubildungen langsam nach rechts abfallend. Das Verteilungsmuster der Karzinomkollektive entbehrt durch unstete, unruhige und von einander abweichende Kerngrößenvariationen der Eindeutigkeit, wie sie bei den Kystomen beobachtet werden konnte. Die Maxima, die auf 13 %, teilweise sogar auf 11 % gefallen sind, ziehen sich mit Differenzen bis über 1 μ auseinander. Sie liegen bei Werten von 8,36 bis 9,46 μ Kerndurchmesser. Noch auffälliger wird dieser Unterschied, wenn man die dazugehörigen Kernvolumina betrachtet, die Werte von 300 bis 440 μ^3 besitzen. Das ist das 3-4 fache Volumen jener Kerne, die bei den Kystomkollektiven die Maxima bildeten.

Eine willkommene Ergänzung zur Verteilungskurve ist die Summenkurve. Sie erlaubt zusätzliche Aussagen und dient der Feststellung, ob und mit welcher Qualität die empirisch gefundene Verteilung einer mathematisch faßbaren Verteilungsform entspricht (69).
Zur Registrierung der Summenkurven wählten wir den Zählmodus mit exponentiell ansteigender (relativ konstanter) Schrittbreite. Durch dieses Auswertungsverfahren erhalten wir ein logarithmisches Intervallsystem, das der biologischen Verhaltensweise von Zellkernkollektiven besser gerecht wird (37). Im Hinblick auf die später durchgeführten Signifikanzberechnungen war es sogar zweckmäßiger, ein vom einzelnen Mittelwert unabhängiges, logarithmisches Intervallsystem zu haben (69).

Die Summenkurven wurden in dem nach den Gauß'schen Integralen geteilten Wahrscheinlichkeitsnetz über eine Logarithmierung der jeweils als Intervallgrenzen angegebenen Abszissenwerte aufgetragen. Aus den Zählwerkablesungen ergaben sich nach Umrechnung in Prozent die entsprechenden Ordinaten-

werte. Die Gesamtzahl der pro Präparat gezählten Zellkerne betrug immer 100 %.

In dem entscheidenden Bereich zwischen 5 % und 95 % ergeben die Summenkurven eine Gerade (Abbildungen 12-19). Damit ist festgestellt, daß die aufgetretenen Kerngrößenvariationen der untersuchten Kystome und Kystadenokarzinome einer logarithmischen Normalverteilung folgen. Aus dem graphischen Bild der Summenkurven läßt sich auch direkt der mittlere Kerndurchmesser $\overline{D}$ ablesen, der definitionsgemäß dem Abszissenwert entspricht, über dem die gefundene Gerade die 50 %-Ordinate schneidet. Der Mittelwert $\overline{D}$ erlaubt als erster Kennwert der Verteilung eine Aussage darüber, von bzw. bis zu welcher Durchmessergröße 50 % aller ausgemessenen Kerne vertreten sind. Aus der Differenz zwischen den Abszissenwerten, bei denen die Gerade die 84,13 %- und 50 %-Ordinaten schneidet, erhält man den Wert der mittleren quadratischen Abweichung σ, die ein Maß für die Streuung der Verteilung darstellt. Die graphisch gefundenen Werte sind in ihren absoluten Größenordnungen in der Tabelle 1 zusammengestellt. Zusätzlich haben wir sie rechnerisch überprüft. Aus den Registrierungsprotokollen der Verteilungskurven erhielten wir nach folgenden Beziehungen (20):

$$\overline{D} = \frac{\Sigma D_i \cdot n_i}{N} \quad ; \qquad \sigma = \sqrt{\frac{\Sigma (\overline{D} - D_i)^2 \, n_i}{N}}$$

Es bedeuten:

D_i = der Zählwerknummer i entsprechende Durchmesserwert
n_i = die im Zählwerk i registrierten Kerne
N = die Gesamtzahl der ausgemessenen Kerne

Alle errechneten Werte, die sehr gut mit den graphisch ermittelten Daten übereinstimmen, sind ebenfalls in der Tabelle 1 aufgeführt. Die Kennzahlen der Verteilungen dürfen als exakt angesehen werden.

Bezeichnend für den quantitativen Unterschied zwischen den Kerngrößen der beiden untersuchten Tumoren ist die auffällige Differenz der mittleren Kerndurchmesser. Während die Kernkollektive der Kystome auch hier recht einheitliche Mittelwerte von 6,1 bis 6,4 μ besitzen, heben sich die der Karzinome bei Werten von 8,7 bis 9,6 μ erheblich stärker von einander ab. Auch die mittleren Volumenwerte $\overline{V}$ (Tabelle 1), die bei den A-Kategorien zwischen 120 und 140 μ^3 liegen, bei C-Kollektiven aber zwischen 345 und 470 μ^3 schwanken, enthalten eine 3-4 fache Volumenzunahme der Karzinomzellkerne.

Da wir diesen Befund schon an Hand der Maximalwerte der Verteilungskurven erheben konnten, dürfen wir nunmehr diese Feststellung als zutreffend für die Kerngrößenverhältnisse der beiden Tumorarten werten.
Betrachten wir dazu nun die Streuung als die andere repräsentative Größe einer Normalverteilung, dann sind ähnliche Verhältnisse zu vermuten. Doch um hier Vergleiche anstellen zu können, bedient man sich eines relativierten Wertes, den der Variabilitätskoeffizient darstellt (20). Dazu werden die Streuungen in Prozenten der Mittelwertsgrößen ausgedrückt. Man erhält nach dem Verhältnis:

$$100 : \overline{D} = V_{koeff} : \sigma \quad \text{für} \quad V_{koeff} = \frac{\sigma \cdot 100}{\overline{D}}$$

Zwar sind zwischen den Variabilitätsmaßen (Tabelle 1) durchaus Unterschiede zu erkennen, daß jedoch zwischen einzelnen Kystom- und Karzinomkollektiven eine relativ gleich große Streuung um den Mittelwert besteht, ist recht bemerkenswert. Das ist eine neue Beobachtung, die gar nicht zu dem Bild der bisherigen Befunde passen will. Hier aber haben uns Signifikanzberechnungen weitergeholfen.

Über Gleichwertigkeit und Ungleichheit zweier Streuungswerte erlaubt der F-Test (20) eine kompetente Aussage. Man bildet dazu einen Quotienten F, indem die zahlenmäßig größere Varianz (das Quadrat der Standardabweichung = σ^2) durch die kleinere dividiert wird.

$$F = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} \qquad \text{dabei gilt} \qquad \sigma_1^2 > \sigma_2^2$$

Die F-Werte werden unter Berücksichtigung der Freiheitsgrade (df), die für ein Zellkernkollektiv mit m Intervallen df = m-1 betragen, in der F-Tafel geprüft. Die Anzahl der besetzten Intervalle m (Tabelle 1) konnte dem logarithmischen Intervallsystem der Summenkurven entnommen werden (69). Die nach den Freiheitsgraden aufgesuchten Werte bezeichnen die Grenze für eine Restwahrscheinlichkeit von p = 5 % bzw. von p = 1 %. Wird dieser Grenzwert erreicht oder überschritten, dann verhalten sich die beiden geprüften Varianzen signifikant (p = 5 %) bzw. sehr signifikant (p = 1 %) heterogen; andernfalls sind sie gleichwertig oder homogen.

An Hand der ermittelten F-Quotienten haben wir Signifikanzberechnungen in dieser Form durchgeführt. In insgesamt sechzehn Prüfungen wurde dabei so verfahren, daß die Streuungsmaße der einzelnen Karzinomkollektive mit denen der Kystomkollektive verglichen wurden. Wie uns Tabelle 2 demonstriert,

weicht die Streuung der Kystadenokarzinome nur in den wenigsten Fällen signifikant von der der Kystome ab. In fünf Fällen zeigen die geprüften Varianzen einen signifikanten und nur einmal einen sehr signifikanten Unterschied. Die restlichen zehn Prüfungen dokumentieren eine Gleichwertigkeit der Streuungen. Wir finden also den Eindruck, den uns der Vergleich der Variabilitätskoeffizienten vermittelte, bestätigt. Folglich braucht zwischen zwei zu vergleichenden Kernkollektiven die Streuung als ein Maß für die relative Breite des Kerngrößenspektrums nicht unbedingt signifikant von einander abzuweichen, um über Kernveränderungen in einem bösartigen Sinn etwas auszusagen. Man darf eher annehmen, daß selbst im karzinomatösen Gewebe des Ovars eine den Kystomen entsprechende Verteilung der Kerne weitgehend aufrecht erhalten bleibt. Von einer allgemeinen Kernverwilderung kann bei den Kystadenokarzinomen daher nur sehr schlecht die Rede sein.

Über die Wahrscheinlichkeit, mit der die so eindeutig von einander unterschiedenen Kerngrößenverhältnisse der beiden Tumoren noch ein und demselben Kernkollektiv zuzuordnen sind, informiert uns die Signifikanzberechnung von Mittelwertsdifferenzen (69, 77). Sie erfolgte in dieser Arbeit nach modifizierten Methoden (20). Bei Zellkernkollektiven mit homogener Varianz ist der Standardfehler für die Mittelwertsdifferenzen σ_{diff} nach folgender Formel zu bilden:

$$\sigma_{diff} = \sqrt{\frac{m_1 \sigma_1^2 + m_2 \sigma_2^2}{m_1 + m_2 - 2} \cdot \frac{m_1 + m_2}{m_1 m_2}}$$

Bei Kernverteilungen mit heterogener Varianz wird jedoch der Standardfehler der beiden zu prüfenden mittleren Durchmesserwerte getrennt verrechnet und in die folgende Beziehung eingesetzt:

$$\sigma_{diff} = \sqrt{\frac{\sigma_1^2}{m_1 - 1} + \frac{\sigma_2^2}{m_2 - 2}}$$

Somit kann der kritische Wert t erstellt werden:

$$t = \frac{|\overline{D}_1 - \overline{D}_2|}{\sigma_{diff}}$$

Wird mit Hilfe dieser t-Werte in der zugehörigen t-Tafel der unter den betreffenden Freiheitsgraden ($df = m_1 + m_2 - 2$) erscheinende Wert erreicht oder überschritten, dann liegt ein signifikanter ($p = 5\ \%$) bzw. ein sehr signifikanter

(p = 1 %) Unterschied zwischen den beiden mittleren Kerndurchmessern vor. In der Tabelle 2 sind diese Verhältnisse dargestellt. Danach sind die Mittelwertsdifferenzen von Karzinom- und Kystomkollektiven nur noch mit einer einprozentigen Restwahrscheinlichkeit als gleichwertig zu bezeichnen, das heißt, sie unterscheiden sich sehr signifikant.

Hinsichtlich der Kerngrößen besteht also zwischen papillären Kystomen und Kystadenokarzinomen des Ovars ein sehr beachtlicher quantitativer und statistisch signifikanter Unterschied.

V. DISKUSSION

Am menschlichen Ovar sind Zellkernmessungen bisher nur von STIEVE (67, 68) und HINTZSCHE (35), die in ihren Arbeiten die verschiedenen Stadien der Follikelreifung und Gelbkörperbildung untersucht haben, vorgenommen worden. Obwohl ein Vergleich aus mehreren Gründen, die nicht nur mit der unterschiedlichen Darstellungsweise, sondern auch mit dem Untersuchungsmaterial, der Präpariertechnik etc. zusammenhängen, nur bedingt zulässig ist, gleichen die von beiden Forschern an Follikelepithelkernen ermittelten Durchmesserwerte von durchschnittlich 5 bis 8 µ den Kerngrößen, die wir an papillären Ovarialkystomen gemessen haben. Fast 90 % der ausgewerteten Kystomkerne fallen auch in diesen Durchmesserbereich. Eine Erklärung für diese Parallelität der Kerngrößen ist wohl in einem ätiologischen Zusammenhang zu vermuten, der nach H. MARTIUS (57) zwischen den vom Keimepithel herstammenden Kystomen und den einfachen Follikelretentionszysten besteht. Diese wiederum gleichen in ihren Kerngrößen, wie es STIEVE (67) nachgewiesen hat, sprungreifen Follikeln.

Über Zellkernmessungen an Tumoren sind dagegen zahlreiche Arbeiten veröffentlicht worden. Beim Studium des Schrifttums kommt man allerdings mit HAMPERL (25) zu dem Schluß, "daß es keine alle Krebse oder gar alle Tumoren umfassende Regel hinsichtlich der Kerngröße gibt"; denn seit den ersten diesbezüglichen Mitteilungen von BORST (6) und HEIBERG (26, 27) hat man immer wieder versucht, eine für Tumoren kennzeichnende Kernveränderung aufzudecken. Daß dabei unterschiedliche und teilweise recht widersprüchliche Ergebnisse herausgekommen sind, ist nicht verwunderlich. Bei fast allen untersuchten Geschwulstarten konnten zwar beträchtliche Kernveränderungen nachgewiesen werden; doch daraus ein Kriterium für bösartiges Wachstum ableiten zu wollen, ist zu Recht abgelehnt worden. Schon SCHAIRER (63) machte darauf aufmerksam, "daß die Volumenvergrößerung der Zellkerne selbst beim Karzinom eine sekundäre und inkonstante Eigenschaft darstellen kann". Auch auf die Mitteilung FERGUSON's (17), "daß die bei bösartigen Geschwülsten aufgetretenen Veränderungen der Kerngrößen auch bei manchen Abnormitäten des Stoffwechsels, bei degenerativen und entzündlich-reparativen Prozessen vorkommen", sei ergänzend verwiesen. Daß es aber auch unter diesen Vorbehalten möglich ist, an Tumoren genaue und aufschlußreiche Ergebnisse zu erzielen, beweisen besonders jene Untersuchungen, die sich mit Zellkernmessungen an gut- und bösartigen Epithelwucherungen befassen.

Im Epithel harnableitender Wege und in Blasengeschwülsten sieht GAUER (21) kaum unterschiedliche Kerngrößenverhältnisse. Je ein Karzinom, ein Kankroid

und ein Papillom weisen in ihren Volumenverteilungen gleiche Maxima auf. Nur ein weiteres Papillom zeigt im Maximum ein um die Hälfte verringertes Kernvolumen. Auch KLOOS und STEFFEN (47) stellen zwischen normalen Blasenepithelien und Papillomen gleiche Kerngrößenverhältnisse fest. Zwischen gutartigen Blasentumoren und Karzinomen ergibt ihre Analyse zwar deutliche Unterschiede in der Art der Kernvariabilität, doch in dem Muster der Kernverteilung gleichen sich beide Tumorarten weitgehend. Die Autoren deuten dies als eine bei beiden Tumorarten gleichermaßen vorhandene Wachstumsintensität und lehnen unkoordinierte Wachstumsvorgänge im Karzinom ab.

Diese Ansicht können wir durchaus unterstreichen, denn abgesehen vom Test im Wahrscheinlichkeitsnetz, der auch für die Kernkollektive der Kystadenokarzinome eine Normalverteilung ergab, läßt die Prüfung der Streuungsmaße zwischen Kystomen und Karzinomen in den meisten Fällen eine gleichwertige Verteilung der Kerngrößen um den Mittelwert erkennen. Der von SCHAIRER geprägte Begriff von einer "Harmonie im Karzinom" besteht also nicht ganz zu Unrecht.

Wie schwierig es unter Umständen ist, die Malignität eines Tumors nur aus seinen morphologischen Zellveränderungen zu erkennen, zeigen die Befunde von DONTENWILL und MOHR (12) an Epithelwucherungen des Respirationstraktes. Die Kernverteilungskurven normaler Tracheal- und Bronchialepithelien sind, ähnlich wie wir es an den Kystomen beobachtet hatten, durch steile Gipfelbildungen charakterisiert. Die Verteilungskurven der Zellkerne von metaplastischen bzw. papillären Epithelveränderungen und von Lungenkarzinomen sind jedoch kaum von einander unterschieden. Überraschend gleichförmig verlaufen die Kurven metaplastischer Trachealepithelien und papillärer Trachealtumoren. Auch zwischen den Kurvenbildern von starker Bronchialschleimhautmetaplasie und infiltrierend wachsender Bronchialkarzinome besteht eine ziemlich verblüffende Übereinstimmung.

An verschiedenen histologischen Formen des Portioepithels und beim Portiokarzinom sind dagegen eindeutigere quantitative Unterschiede in den Kerngrößen beschrieben worden. Neben JOHNSTON (45), CRAMER (10), FORAKER (18), FORAKER und REAGAN (19), die zwischen einzelnen Typen zervikaler Veränderungen Kerngrößenunterschiede feststellten, hat erst HILLEMANNS (33) eine kontinuierliche Progression der Kerngrößen vom normalen Epithel über abnorme, unruhige und atypische Epithelstadien bis zum ausgebildeten Portiokarzinom nachgewiesen. Gegenüber dem Zustand beim normalen Epithel enthalten die Zellkerne beim Portiokarzinom eine 3-4 fache Volumenzunahme. Bei den Kernkollektiven der Kystadenokarzinome hatten wir ebenfalls eine Zunahme der Volumenwerte um denselben Betrag festgestellt. Aber nicht nur

deswegen ist die Untersuchung von HILLEMANNS beachtenswert, sondern weil in ihr erstmals überzeugend dargestellt ist, wie sich im Verlauf der Krebsentstehung die Zellkerngröße wandelt und durch eine funktionelle Aktivierung und substanzielle Zunahme in jeder präkanzerösen Phase quantitativ nachweisbar bleibt. Sicherlich geht nicht jedes abnorme, unruhige oder atypische Plattenepithel zwangsläufig in einen Krebs über, doch bestätigen diese Befunde, die der Autor durch zytophotometrische Untersuchungen unterbauen konnte, die Hypothese von einer sekundären Entartung der Zelle.

In diesem Zusammenhang ist es auch bemerkenswert, daß das atypische Plattenepithel seinen zytologischen Charakter kurz vor erfolgter Invasion schlagartig ändert und in den präinvasiven Bezirken, von denen das Krebswachstum ausgeht, ein Kernvolumen aufweist, das gegenüber dem vorigen Zustand auf die Hälfte reduziert ist. Bei einem Papillom der Harnblase hatte GAUER (21), wie berichtet, einen ähnlichen Kernzustand beschrieben. Es ist durchaus möglich, daß es sich dabei um ein analoges Geschehen handelt. Auch in der Frühphase solider Geschwülste, die durch subkutane Implantation von Ascitestumorzellen erzeugt wurden, finden EDER und WRBA (13) Kerngrößenunterschiede zwischen Innen- und Außenzone. Während in der Außenzone schon frühzeitig Kernvergrößerungen festzustellen sind, ist die Grenze zur Innenzone regelmäßig durch einen steilen Abfall der Kerngrößen gekennzeichnet. Es konnten also auch an Ascitestumorzellen bei der Entwicklung solider Geschwülste Umgestaltungsprozesse beobachtet und durch Zellkernmessungen objektiviert werden.

Für uns sind das in der Tat sehr interessante Ergebnisse; denn unter diesen Aspekten ließe sich vielleicht auch die als "possibly malignant" bezeichnete Ib-Gruppe der proliferierenden Kystadenome durch sichere quantitative Merkmale näher eingrenzen. In dieser Beziehung sind unsere Beobachtungen, die wir an genannten Ovarialtumoren erheben und durch Signifikanzberechnungen sichern konnten, nur als ein Ansatzpunkt zur Klärung weiterer Probleme zu verstehen.

Im Hinblick auf die Fragestellung, die dieser Arbeit zugrunde liegt, haben wir aus den quantitativen Kerngrößenunterschieden Hinweise über die Gut- und Bösartigkeit der untersuchten Eierstockstumoren entnehmen können. Dazu hat sich die karyometrische Technik, wie wir sie durch die verschiedenen und zur genauen Kerngrößenanalyse notwendigen Auswertungsverfahren mit dem TGZ-3 der Firma ZEISS angeboten bekommen, als eine zugängliche und äußerst exakte Methode erwiesen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Nach dem derzeit modernsten Verfahren wurden mit dem Teilchengrößenzählgerät der Firma ZEISS Zellkernmessungen an papillären Kystomen und Kystadenokarzinomen des Ovariums vorgenommen. Die Kerngrößenverteilungskurven beider Ovarialtumoren sind in ihrem Verlauf, in der Gipfelhöhe und in der Skala der Durchmesserwerte deutlich von einander unterschieden. Die Maxima der Karzinomkollektive enthalten gegenüber denen der Kystome eine 3-4 fache Zunahme des Kernvolumens. Nach der Darstellung der Summenkurven im Wahrscheinlichkeitsnetz gehorchen die Kerngrößenverhältnisse der untersuchten Tumoren einer logarithmischen Normalverteilung. Der Vergleich der Variabilitätskoeffizienten ergab weiterhin, daß in den meisten Fällen zwischen Kystom- und Karzinomkollektiven eine relativ gleich große Streuung um den Mittelwert besteht. Diese Beobachtung konnte durch den F-Test verifiziert werden. Schließlich sind mit Hilfe des t-Testes die Mittelwertsdifferenzen auf ein signifikantes Verhalten geprüft worden. Danach können die Kerngrößenverhältnisse der beiden Tumoren nur noch mit einer einprozentigen Restwahrscheinlichkeit als gleichwertig bezeichnet werden, d.h. daß sie sehr signifikant von einander abweichen.

D A N K

Herrn Prof. Dr. W. BICKENBACH danke ich für die freundliche Überlassung des Themas, Herrn Dr. JOPP für die verständnisvolle Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten, für kritische Beratung und wohlwollende Mithilfe.

Herrn Priv.-Doz. Dr. WITT, Oberarzt an der Universitäts-Frauenklinik Göttingen, danke ich für das freundliche Entgegenkommen, mir seine Habilitationsarbeit über "Vergleichende Zellkerngrößenbestimmungen am Genitale und am Mundepithelabstrich der Frau" zum Studium überlassen zu haben.

Zu ganz besonderem Dank bin ich auch Herrn JÄHRLING von der Firma ZEISS verpflichtet, der großzügig geholfen hat, mir für meine Zellkernmessungen einen Teilchengrößenanalysator TGZ-3 zur Verfügung zu stellen.

Nicht zuletzt schulde ich Dank den Damen vom histologischen und fotografischen Labor der Klinik für die stets gewährte Unterstützung bei der Aufarbeitung des Materials und bei der Herstellung der Mikroaufnahmen.

LITERATURVERZEICHNIS

1 AMBROSIUS, H.: Über die Genauigkeit und zeitliche Rentabilität von Zellkern-Meßmethoden.
Mikroskopie 8, 1953, S. 95

2 ARNDT, G.: Kernstudien zur Unterscheidung von Regeneration und Geschwulstbildung.
Zschr. Krebsforsch. 41, 1935, S. 393

3 BENNINGHOFF, A.: Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung.
Anat. Nachr. 1, 1949/51, S. 50

4 BOCK, H. E., K. HÜBNER:
Karyometrie an Leberpunktatausstrich zur Differentialdiagnose Verschlußikterus - Virushepatitis.
Klin. Wschr. 35, 1957, S. 1058

5 BOGUTH, W., H. LANGENDORFF u. E. TONUTTI:
Zellkerngröße als Indikator der Funktionsbeziehung Hypophyse - NNR.
Med. Welt. 13, 1951, S. 408

6 BORST, M.: Über die Kerngröße der Geschwulstzellen.
Sitzungsbericht d. phys. med. Ges. zu Würzburg 1910

7 BOSCHANN, H. W.: Cytologie des Cavumaspirats bei gut- und bösartigen Erkrankungen.
Arch. Gynäk. 189, 1957, S. 376

8 BOSCHANN, H. W.: Cytometry on normal and abnormal endometrial cells.
Acta cytol. (Philad.) 2, 1958, S. 520

9 CASPERSON, T., H. J. HOLMGREN:
Variationen der Kerngröße während der verschiedenen Phasen der Leberarbeit.
Anat. Anz. 79, 1934, S. 53

10 CRAMER, H.: Variationsstatistische Untersuchungen über die Kerngröße in verschiedenen histologischen Formen des Portioepithels unter besonderer Berücksichtigung des Karzinoms.
Arch. Gynäk. 182, 1953, S. 461

11 DEUTICKE, K.: Die Kernverhältnisse bei Hautkarzinomen.
Zschr. Krebsforsch. 43, 1936, S. 39

12 DONTENWILL, W., H. MOHR:
Vergleichende Untersuchungen an metaplastischen und malignen Epithelwucherungen des Respirationstraktes im Tierexperiment.
Zschr. Krebsforsch. 65, 1963, S. 168

13 EDER, M., H. WRBA: Veränderungen der Kerngrößen und der DNS-Synthese bei der Entwicklung solider Geschwülste aus Ascitestumorzellen.
Zschr. Krebsforsch. 65, 1963, S. 309

14 EHRICH, W.: Die polymere Kerngröße als Ausdruck der Krebsanaplasie.
Zschr. Krebsforsch. 44, 1936, S. 308

15 EULIG, H-G., W. MOND:
Der Einfluß der Fixierung auf das Kernvolumen.
Zschr. wiss. Mikrosk. 61, 1952, S. 201

16 v. FABER, H., K. DITTRICH:
Karyometrie mit Hilfe des Teilchengrößenanalysators am Beispiel der Schilddrüse.
Zeiss Mitt. 8, 1965, S. 353

17 FERGUSON, J. H.: Some limitations of cytological diagnosis of malignant tumors.
Cancer (N-Y) 2, 1949, S. 845

18 FORAKER, A.: An analysis of nuclear size and nuclear: Cytoplasmic ratio in histological diagnosis of intraepithelial carcinoma of the cervix uteri.
Cancer 7, 1954, S. 884

19 FORAKER, A., J-W. REAGAN:
Nuclear size and nuclear: Cytoplasmic ration in the delineation of atypical hyperplasia of the uterin cervix.
Cancer 9, 1956, S. 470

20 FRÖHLICH, W. D.: Forschungsstatistik
Bouvier, Bonn 1965

21 GAUER, J. P.: Kerngrößenuntersuchungen am Übergangsepithel.
Mitt. nat.-forsch. Ges. Bern 6, 1949, S. 85

22 GOTHE, H-D.: Kerngrößenmessungen mit dem Polarimeter als Mittel zur Beurteilung von Funktionszuständen innersektorischer Organe.
Diss. Göttingen 1954

23 GRUNDMANN, E.: in Allg. Cytologie
Thieme, Stuttgart 1964, S. 94

24 HALLER, J.: Kerngrößenveränderungen in Milzovar und Hypophyse.
Zschr. Geburtsh. 158, 1962, S. 1

25 HAMPERL, H.: in Hdb. der allg. Path. der Geschwülste.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956, S. 24

26 HEIBERG, K. A.: Ein paar Bemerkungen über die Zellkerne und die Granula experimenteller Carcinome wie auch über Abstrichpräparate aus diesen Tumoren.
Biol. Zbl. 30, 1910, S. 400

27 HEIBERG, K. A.: Studien über Haut-Epithel-Atypie bei Krebs- und Granulationsgewebe und die diagnostische Verwendung der Kerngröße.
Virchow's Archiv Bd. 234, 1921, S. 469

28 HEIBERG, K. A.: Maß und Zahl im Zelleben
Thieme, Leipzig 1934

29 HEINKELE, T.: Kernmessungen an Mammacarcinomen der Maus.
Zschr. Krebsforsch. 43, 1936, S. 323

30 HELWEG-LARSEN, H-F.:
Nuclear class series
Munksgaard, Kopenhagen 1952

31 HERTWIG, G.: Der Einfluß der Fixierung auf das Kern- und Zellvolumen.
Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 23, 1931, S. 484

32 HERTWIG, G.: Weitere Untersuchungen über das rhythmische Verdopplungswachstum der Zellkerne.
Arch. exper. Zellforsch. 22, 1938, S. 212

33 HILLEMANNS, H-G.: Entstehung und Wachstum des Zervixkarzinoms.
Karger, Basel 1964

34 HINTZSCHE, E.: Beobachtungen über die Kerngröße menschlicher Zellen.
Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 39, 1936, S. 45

35 HINTZSCHE, E.: Die Kerngröße der Follikelepithelien und der Granulosa-Luteinzellen im menschlichen Eierstock. Mschr. Geburtsh. 120, 1945, S. 200

36 HINTZSCHE, E.: Statistische Probleme aus der Kerngrößenforschung. Experientia (Basel) 1, 1945, S. 103

37 HINTZSCHE, E.: Biologische Statistik durch materialgerechte Klassen-einteilung. Schweiz. Z. Volkswirtsch. Statistik 82, 1946, S. 433

38 HINTZSCHE, E.: Über Normalkurven der Kerngrößenverteilung. Mitt. nat.-forsch. Ges. Bern 4, 1947, S. 19

39 HINTZSCHE, E.: Zyklische Änderungen der Kerngröße in Oberflächen-epithel und Drüsen des menschlichen Uterus. Gynaecologia (Basel) 128, 1949, S. 270

40 JACOBJ, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Ver-doppelung ihres Volumens. Arch. Entw. mech. Organ. 106, 1925, S. 124

41 JACOBJ, W.: Die Kernvergrößerung bei malignen Geschwülsten als Ausdruck des stattgehabten Moebius-Modus. Arch. Entw. mech. Organ. 120, 1929, S. 177

42 JACOBJ, W.: Volumetrische Untersuchungen an den Zellkernen des Menschen und das allgemeine Problem der Zellkern-größe. Anat. Anz. Ergzbd. 72, 1931, S. 236

43 JACOBJ, W.: Die Zellkerngröße beim Menschen. Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 38, 1935, S. 177

44 JACOBJ, W.: Die verschiedenen Arten des gesetzmäßigen Zellwachs-tums und ihre Beziehung zu Zellfunktion, Umwelt, Krankheit und innerem Bauplan. Arch. Entw. mech. Organ. 141, 1942, S. 584

45 JOHNSTON, D. G.: Cytoplasmic: nuclear ratios in the cytological diagnosis of cancer. Cancer 5, 1952, S. 945

46 KAMPMANN, H.: Zyklische Zellkerngrößenbestimmungen am uterus myomatosus. Diss. Göttingen 1961

47 KLOOS, K., J. STEFFEN:
Histologische und cytologische Untersuchungen an Fibroepitheliomen der Harnblase.
Zschr. Krebsforsch. 57, 1951, S. 577

48 KRACHT, J.: Karyometrische Befunde an Phäochromocytomen.
Endokrinologie 42, 1962, S. 157

49 KRACHT, J., M. SPAETHE:
Die Karyometrie der NNR und ihre Fehlerquellen.
Zschr. wiss. Mikrosk. 62, 1954/55, S. 227

50 KRANTZ, H.: Die Kerngröße und ihre Abhängigkeit von äußeren und inneren Faktoren.
Zschr. Zellforsch. 35, 1951, S. 425

51 KRAUSS, H.: Messungen des Zellkernvolumens am Endometrium gesunder Frauen und seine Veränderungen im Verlauf des Zyklus.
Geburtsh. u. Frauenhk. 11, 1951, S. 1042

52 LANGER, E.: Kernveränderungen an Rattenlebern unter Einfluß des cancerogenen Stoffes 4-Dimethylaminoazobenzol (Buttergelb).
Zschr. Krebsforsch. 52, 1942, S. 443

53 LENNERT, K., W. REMMELE:
Karyometrische Untersuchungen an Lymphknotenzellen des Menschen.
Acta haemat. 19, 1958, S. 99

54 LINDEN, W.; A. CASTANO Y ALMENDRAL u. R. FRISCHKORN:
Karyometrische Untersuchungen am Walker-Karzinom nach Einzeitbestrahlung mit verschiedenen Dosen ^{60}Co-Gamma bzw. 200-kv- Röntgenbestrahlung.
Strahlentherapie 123, 1964, S. 1

55 LUDWIG, K-S.: Das Zellkernvolumen in der Schilddrüse normaler sowie mit Thiouracil und Thyroxin behandelter Ratten.
Acta anat. 11, 1950/51, S. 146

56 LUKSCH, F., R. REISENAUER:
Ein Beitrag zur karyometrischen Smeardiagnostik.
Zbl. Gynäk. 82, 1960, S. 209

57 MARTIUS, H.: in Lehrbuch der Gynäkologie
Thieme, Stuttgart 1964, S. 217

58 MÖRIKE, K-D.: Mathematische Erörterungen zur Meßmethodik von nichtrunden Zellkernen.
Anat. Anz. 100, 1953/54, S. 87

59 PETERS, K.: Periodische Wachstumsrhythmen tierischer und pflanzlicher Zellkerne.
Zschr. Zellforsch. 37, 1952, S. 513

60 PUFF, A.: Methode zur planimetrischen Kernvolumenbestimmung an uneinheitlichem Kernmaterial.
Zschr. wiss. Mikrosk. 61, 1952, S. 210

61 SALVATORE, C. A.: Action of estrone and progesterone on nuclear volume (studied by applying the karyometric-statistical method).
Biol. Bull. 98/99, 1950, S. 112

62 SAUSER, G.: Die Größe des Zellkerns in verschiedenen Tierklassen unter Berücksichtigung des Geschlechts, der Domestikation und Kastration.
Zschr. Zellforsch. 23, 1936, S. 677

63 SCHAIRER, E.: Kernmessungen und Chromosomenzählungen an menschlichen Geschwülsten.
Zschr. Krebsforsch. 43, 1936, S. 1

64 SCHERER, E.: Karyometrische Untersuchungen bei Sarkomen und Melanomalignomen vor und während der Bestrahlung.
Strahlentherapie 109, 1959, S. 28

65 SCHMIDT, R.: Über die Veränderungen der Kernvolumina und die Bildung von Riesenzellkernen in der Leber der weißen Maus nach parenteralen Alloxangaben.
Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 67, 1961, S. 233

66 SCHREUS, H-T., E. STELZER:
Über Veränderungen der Lymphocyten im Verlauf des ovariellen Zyklus.
Blut 2, 1956, S. 37

67 STIEVE, H.: Beobachtungen an menschlichen Eierstöcken.
Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 22, 1930, S. 591

68 STIEVE, H.: Über Follikelreifung, Gelbkörperbildung und den Zeitpunkt der Befruchtung beim Menschen. Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 53, 1943, S.467

69 STÖBER, W., H-J. WITT u. M. ARNOLD: Teilchengrößenmessungen an anorganischen und biologischen Partikeln. Zeiss Mitt. 8, 1962, S.281

70 WERMEL, E.M., Z.P. IGNATJEWA: Über Veränderungen der Kerngröße bei Vergiftungen. Zschr. Zellforsch. 17, 1933, S.467

71 WERMEL, E.M., L.W. SCHERSCHULSKAJA: Über die Größe bösartiger Zellen und ihre Variabilität. Zschr. Zellforsch. 20, 1934, S.54

72 WILFLINGSEDER, P.: Über die Bedeutung der Zellkerngröße beim Kropf und im besonderen beim Adenom. Forschungen u. Forscher der Tiroler Ärzteschule 1945-1947, S.343

73 WILFLINGSEDER, P.: Funktion und Geschwulstwachstum der Schilddrüse im Bild der Zellkerngröße. Krebsarzt 2, 1947, S.249

74 WILFLINGSEDER, P.: Karyometrik Mikroskopie 3, 1948, S.243

75 WITT, H-J.: Zelluläre Bestandteile der Uterusmukosa im Tupfenpräparat. Arch. Gynäk. 193, 1958, S.310

76 WITT, H-J.: Das Zellbild im Tupfenpräparat der Tubenschleimhaut. Geburtsh. u. Frauenhk. 20, 1960, S.1076

77 WITT, H-J.: Vergleichende Zellkerngrößenbestimmungen am Genitale und am Mundepithelabstrich der Frau. Habil.-Schrift, Göttingen 1961

78 WITT, H-J.: Über Kerngrößenbestimmungen während des weiblichen Zyklus. Geburtsh. u. Frauenhk. 22, 1962, S.473

79 WITT, H-J.: in SCHMITT-MATTHIESEN: Das normale menschliche Endometrium
Thieme, Stuttgart 1963, S. 96

80 WÜSTENFELD, E.: Der Einfluß von Fixierungsmitteln, -beginn, Temperatur und Färbung auf die Kerngröße.
Zschr. wiss. Mikrosk. 62, 1954/55, S. 227

LEBENSLAUF

Am 29. September 1938 wurde ich als erstes Kind der Eheleute Dr. jur. Alois Erwes und seiner Frau Marianne, geb. Walther, in Köln geboren. Nach 8jährigem Besuch der Volksschulen in Königswinter und Unna bestand ich 1953 am staatl. Aufbaugymnasium in Rüthen/Möhne die Aufnahmeprüfung und besuchte die Anstalt bis zur Reifeprüfung im März 1960.

Im Sommersemester des gleichen Jahres begann ich in Bonn das Studium der Medizin, legte dort im August 1961 das Vorphysikum und im April 1963 das Physikum ab. Im folgenden Semester durfte ich am physiologischen Institut der Universität Bonn eine Stelle als studentische Hilfskraft wahrnehmen.

Im Wintersemester 1963/64 setzte ich dann mein Medizinstudium an der Universität München fort und bestand dort im Dezember 1966 das medizinische Staatsexamen.

Nachdem ich mich in den folgenden Monaten mit der Fertigstellung der vorliegenden Dissertation befaßt hatte, trat ich zum 1.7.1967 eine Medizinalassistentenstelle an der I. Universitätsfrauenklinik München an. Jetzt bin ich seit dem 1.11.1967 an der Chirurgischen Klinik der städt. Krankenanstalten Wuppertal-Barmen tätig.